

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 16 FEV. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

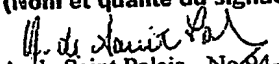
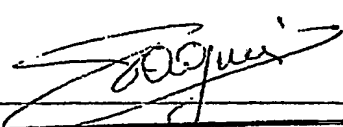
DOCUMENT DE PRIORITÉ  
PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.Inpi.fr

<p>REMISE DES PIÈCES DATE <b>24 JAN. 2003</b> LIEU <b>99</b> N° D'ENREGISTREMENT <b>0300818</b> NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI <b>24 JAN. 2003</b></p>		<p><b>1</b> NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE  CABINET MOUTARD B.P. 513 78005 VERSAILLES CEDEX</p>	
<p>Vos références pour ce dossier (facultatif) IRISB0018</p>			
<p>Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie</p>			
<p><b>2</b> NATURE DE LA DEMANDE</p>		<p>Cochez l'une des 4 cases suivantes</p>	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
<p><i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i></p>		<p>N° _____ Date ____/____/____ N° _____ Date ____/____/____</p>	
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		<p><input type="checkbox"/> N° _____ Date ____/____/____</p>	
<p><b>3</b> TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)  COMPOSITION COMPRENANT UN EXTRAIT D'APHANIZOMENON FLOS-AQUAE, SON UTILISATION ET SA PRÉPARATION.</p>			
<p><b>4</b> DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</p>		<p>Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»</p>	
<p><b>5</b> DEMANDEUR</p>		<p><input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»</p>	
Nom ou dénomination sociale		LANATECH Laboratoire Nature et Technique	
Prénoms			
Forme juridique		S.A.R.L.	
N° SIREN		3 . 9 . 1 . 8 . 3 . 0 . 5 . 8 . 5	
Code APE-NAF		2 . 4 . 1 . G	
Adresse	Rue	19, rue Auber	
	Code postal et ville	75009	PARIS
Pays		France	
Nationalité		française	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			

REMISE DES PIÈCES DATE <b>24 JAN. 2003</b> LIEU <b>99</b> N° D'ENREGISTREMENT <b>0300818</b> NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réservé à l'INPI		DB 540 W / 260899	
<b>Vos références pour ce dossier :</b> <i>(facultatif)</i>			IRISB0018		
<b>6 MANDATAIRE</b>					
Nom			de Saint Palais		
Prénom			Arnaud		
Cabinet ou Société			CABINET MOUTARD		
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel					
Adresse	Rue		35, rue de la Paroisse		
	Code postal et ville		78000 PARIS		
N° de téléphone <i>(facultatif)</i>			01 30 83 79 79		
N° de télécopie <i>(facultatif)</i>			01 30 83 79 78		
Adresse électronique <i>(facultatif)</i>			asp@moutard.fr		
<b>7 INVENTEUR (S)</b>					
Les inventeurs sont les demandeurs			<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée		
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>			Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)		
Établissement immédiat ou établissement différé			<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		
Paiement échelonné de la redevance			Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
<b>9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b>			Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention <i>(joindre un avis de non-imposition)</i> <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt <i>(joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence) :</i>		
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes					
<b>10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire)  A. de Saint Palais - No 94-0306			<b>VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI</b> 		

5

- 10 La présente invention concerne une composition comprenant un extrait d'algue *Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* applicable par voie topique. Elle s'applique plus particulièrement, mais non exclusivement, au traitement des couches supérieures de l'épiderme et/ou du cheveu, notamment à la  
15 réparation de certaines altérations des tissus cutanés telles que les vergetures et/ou à la contribution à l'embellissement du cheveu.

De façon générale, le vieillissement cutané induit est provoqué par des facteurs extrinsèques (vieillissement photo-induit et environnemental). Au  
20 niveau de la peau, l'exposition environnementale quelle soit solaire ou quelle soit due aux polluants atmosphériques se traduit par des ridules et rides profondes, des télangiectasies et des lésions purpuriques, des taches pigmentaires et hyperplasie sébacée, des troubles de l'hydratation cutanée, une augmentation de la perte transépidermique en eau, une modification des  
25 lipides de surface, une augmentation de la desquamation cutanée.

Les plus importantes modifications histologiques liées au vieillissement induit siègent au niveau du derme, notamment des fibroblastes, des composants de la matrice extracellulaire et du réseau vasculaire. La jonction dermo-  
30 épidermique s'affaisse, entraînant une diminution des points d'attache entre le derme et l'épiderme. Une altération simultanée des cellules de l'épiderme est également notée avec une perte de polarité des kératinocytes, une diminution du nombre de cellules de Langherans etc....

La présente invention concerne l'utilisation d'une variété unique de cyanobactéries, variété découverte dans le lac Klamath, Oregon (USA) et caractérisée par Renhui et *al.* (Renhui Li, Wayne W. Carmichael, Yongding Liu & Makoto M. Watanabe, Hydrobiology, 438: 99-105, 2000, Taxonomic re-  
5 evaluation of *Aphanizomenon-flos-aquae* NH-5 based on morphology and 16S rRNA gene sequences).

Les cyanobactéries constituent un groupe particulier de procaryotes autrefois rattaché au règne végétal. Ce sont des êtres vivants unicellulaires très petits souvent bleu-vert (d'où le nom d'algues bleues) autotrophes et d'une  
10 organisation relativement simple. Elles ont l'aptitude de croître dans des milieux extrêmes et de fixer le diazote.

Des préparations à base d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* séchées sont préconisées en tant que complément alimentaire pour leurs nombreux  
15 constituants, notamment leur forte teneur en protéines hautement assimilables et la présence des vitamines B6, B12 et F.

En effet, les études répertoriées montrent que l'administration orale d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* :

- 20 • permet d'augmenter la réactivité du système immunitaire par augmentation de la synthèse d'ARN messager codant pour l'Interleukine 1 (IL-1) (Characterization of human monocyte activation by a water soluble preparation of *Aphanizomenon flos-aquae*, Phytomedicine, Pugh N, Pasco DS, 2001, Nov 8(6) : 445-53),
- 25 • est bénéfique pour la santé grâce à la diversité des nutriments qui la compose (Microalgae as food & supplement, Kay RA, Crit. Rev. Food Sci. Nut., 1991, 30(6) : 555-73),
- est une bonne source nutritionnelle en acides gras polyinsaturés qui lui confèrent une propriété hypocholestérolémiante (Rafail I. Kushak,  
30 Christian Drapeau, Elisabeth M. Van Cott, Harland H; Winter, JANA, Vol.2 (3), 2000, 59-65).

---

En revanche, aucun document ne fait référence à l'utilisation de l'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* pour la préparation de compositions

bénéfiques pour la prévention du vieillissement cutané et l'embellissement des cheveux notamment en vue d'une application topique.

Or, une incorporation *per se* d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* dans  
5 des compositions utilisables par voie topique n'est pas possible compte tenu du faible degré de solubilisation de l'algue séchée, de sa forte coloration, de sa forte odeur et du manque de stabilité de ses composés biochimiques.

L'invention a donc pour objet de résoudre ces inconvénients par la mise au  
10 point d'une composition applicable par voie topique, qui permet de conserver les principes actifs de l'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* dans toute leur intégrité afin de participer activement au traitement des couches supérieures de l'épiderme et/ou du cheveu notamment à la prévention du vieillissement cutané et à l'embellissement du cheveu.

15 A cet effet, elle propose une composition applicable par voie topique comportant au moins un extrait d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* à une concentration comprise entre 0,01 et 10% en matière sèche du poids total de la composition.

20 Avantageusement, un procédé pour la préparation de ladite composition comportant au moins un extrait d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* comprend la préparation dudit extrait par extraction des substances actives contenues dans l'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* par exemple sèche  
25 lyophilisée notamment selon les étapes suivantes :

- au moins une macération à une température de 25 à 50°C d'algues bleues séchées de l'espèce *Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* en présence d'enzymes telles que des cellulases, des pectinases et des glucanases pendant un temps de dix minutes à dix heures sous  
30 agitation,
- une séparation liquide/solide par centrifugation,
- une séparation liquide/liquide par un procédé de filtration membranaire,

- un séchage et/ou une dilution dans une solution contenant des adjuvants spécifiques, par exemple du sorbitol,
  - une éventuelle séparation spécifique des divers constituants ainsi extraits, par exemple par chromatographie, les différentes substances
- 5 obtenues pouvant être utilisées seules ou en mélange, selon l'effet recherché.

L'étape de séchage pourra aussi bien être un séchage classique (chaleur) qu'un séchage par nébulisation ou lyophilisation.

10

Par ce procédé, les substances ayant une activité majeure sur la peau et le cheveu sont extraites, à savoir :

- des caroténoïdes,
- des phycocyanines,
- 15 - des acides aminés, notamment la méthionine, la lysine, la proline et la sérine,
- des polysaccharides.

20 Le susdit extrait pourra être dissous dans une solution aqueuse telle qu'un mélange eau/sorbitol.

Ladite composition pourra se présenter sous la forme d'émulsions simples ou multiples telles qu'une émulsion eau/huile ou huile/eau ou encore une émulsion triphasique et/ou un gel ou une solution aqueuse ou

25 hydroalcoolique.

Ladite composition pourra également se présenter sous la forme d'un système vectorisé à libération contrôlée ou à libération modulée.

30 Des modes d'exécution de l'invention et des exemples de formulations dudit cosmétique et/ou composition dermatologique seront décrits, ci-après, à titre d'exemples non limitatifs.

---

La figure unique est la représentation d'un schéma d'un profil obtenu par hybridation de sondes d'ADN complémentaires marquées avec les différents ARNm obtenus avec un épiderme normal humain traité avec un extrait brut aqueux d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*.

5

Le procédé pour la préparation d'une composition comportant au moins un extrait d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* contenant des substances actives comprend la préparation dudit extrait selon les étapes suivantes :

- 10        - Au moins une macération à une température de 25 à 50°C et de préférence de 35°C d'algues bleues séchées *Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* en présence de cellulases, de pectinases et de glucanases pendant un temps de dix minutes à dix heures et de préférence de quatre heures sous agitation. Les résultats des essais
- 15        montrent que l'attaque des différentes enzymes permet une meilleure solubilisation de la paroi parenchymateuse des algues et ainsi une plus grande richesse en polysaccharides de l'extrait aqueux ainsi préparé.
- 20        - Une séparation liquide/solide par centrifugation sous une accélération de 5 000 à 10 000g, et de préférence de 9000g.
- Une séparation liquide/liquide par un procédé de filtration membranaire avec un seuil de coupure compris entre 100 000 daltons et 0,2 µm.
- 25        - Un séchage et/ou une dilution dans une solution aqueuse de sorbitol. On entend par séchage aussi bien un séchage classique (chaleur) qu'un séchage par nébulisation ou lyophilisation.
- Une séparation spécifique des divers constituants ainsi extraits par chromatographie, les différentes substances obtenues étant utilisées seules ou en mélange, selon l'effet recherché.

30

L'extrait ainsi obtenu est composé notamment de protéines (entre 0,05 à 1% m/m (rapport massique)), de vitamine B12 (entre 0,003 à 0,05% m/m), de Lysine (entre 0,2 à 3% m/m), de méthionine (entre 0,04 à 0,6% m/m), de proline (entre 0,15 à 2,5% m/m) et de sérine (entre 0,15 à 2,5% m/m).



- La méthode des filtres à haute densité ou "cDNA macroarrays" sur un support comprenant au moins 600 gènes caractéristiques du système cutané et du système pileux a été utilisée pour étudier l'effet de l'extrait
- 5 d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* sur l'expression des gènes codant pour des protéines majeures d'intérêt cosmétique ou dermo-cosmétique.
- Dans cette méthode, les dépôts (sondes) sont des clones d'ADNc (acide désoxyribonucléique complémentaire) ou des produits de PCR (« Polymerase Chain Reaction » ou réaction en chaîne de la polymérase),
- 10 fixés à haute densité, sur une membrane de nylon. Le marquage est le plus souvent radioactif et le criblage est réalisé en excès de cible, on obtient ainsi une mesure de l'abondance relative de chacun des ARNm (acide ribonucléique messenger) présents dans l'échantillon de départ.
- 15 Les protéines sont obtenues à partir d'explants de peau préparés suite à une plastie mammaire sur un donneur.
- Deux échantillons de peau de 20 cm<sup>2</sup> ont été préparés et maintenus en survie dans un milieu de culture.
- L'extrait d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* a été appliqué sur l'explant
- 20 à raison de 5 mg/cm<sup>2</sup> d'une solution à 2% d'extrait brut aqueux sans adjuvant le matin et le soir pendant deux jours.
- Après chaque application, les explants ont été incubés à 37°C avec 5% de CO<sub>2</sub>.
- L'explant de peau témoin a été traité selon le même procédé avec de l'eau
- 25 stérile.
- Les morceaux de peau (épidermes) ont été rincés puis ils ont été placés en présence de Tri-reagent ® (Sigma T9424) puis congelés à -80°C.
- Les ARN ont été extraits et purifiés à partir des surnageants obtenus après
- 30 broyage des épidermes congelés.
- Les ARN sont traités, d'une part, au moyen d'une enzyme ARNase-out afin d'inhiber les enzymes ARNases et, d'autre part, au moyen d'une enzyme
- 
- ADNase 1 pour éliminer les traces d'ADN contaminant l'ARN.

La qualité des ARN est contrôlée par électrophorèse sur gel d'agarose.

Les groupes d'ARNm sont purifiés par hybridation des extrémités poly(A) (chaîne de nucléotides adénosines) des ARNm avec des amorces oligo(dT) (oligonucléotides constitués de desoxythymidines) biotinylées.

Des sondes ADN multiples marquées au phosphore  $^{33}\text{P}$  ont été réalisées par transcription inverse des ARNm liés sur des billes de poly(dT) (chaîne de nucléotides desoxythymidines), à l'aide d'un groupe d'amorces spécifiques des séquences immobilisées sur les filtres en présence de  $\alpha^{33}\text{P}$  dATP ( $\alpha^{33}\text{P}$ -desoxyadénosine triphosphate).

Les sondes marquées ont été purifiées par chromatographie d'exclusion encore appelée tamisage moléculaire, gel-filtration ou perméation de gel.

La qualité et l'équivalence des sondes marquées ont été évaluées par comptage en scintillation liquide. Les scintillateurs sont des milieux dans lesquels une fraction non négligeable de l'énergie absorbée lors d'une interaction avec une particule  $\alpha$  ou  $\beta$  est transformée, par luminescence, en photons susceptibles d'être détectés. Cette détection consiste à les convertir en un signal électrique qui peut être traité par une électronique appropriée.

Des membranes de type "Custom ATLAS BA 600/1" sont prétraitées puis les ADNc immobilisés sur chaque membrane sont hybridés ( $68^\circ\text{C}$ , 12 heures) avec des sondes marquées correspondantes, les filtres sont ensuite lavés et analysés par quantification directe de la radioactivité des spots à l'aide d'un appareil du type phosphorImager<sup>TM</sup> (Cyclone, Packard Instrument) et de son logiciel QuantArray<sup>TM</sup> (Packard).

Le tableau I ci-dessous présente les gènes dont l'expression relative (RE) a été significativement modifiée après quarante huit heures d'une application bi-quotidienne d'un extrait brut d'Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae sur un épiderme normal humain.

Tableau I :

Nom des gènes	Témoin	Extrait d' <i>Aphanizomenon- flos-aquae flos- aquae</i>	
	RE	RE	%
Vimentine (VIM)	10,0	21,8	217
Métalloprotéase 11 (MMP11) Stromélysine 3	6,2	15,9	255
Métalloprotéase 3 (MMP3); Stromélysine 1 (STMY1; SL1); Transine 1	5,7	17,3	306
Inhibiteur tissulaire de métalloprotéase 1 (TIMP1); Potentiateur de l'activité érythroïde (EPA); Inhibiteur des collagénases fibroblastiques	10,0	24,3	244
Sous-unité gamma du récepteur de l'interleukine-2 (IL-2R gamma; IL2RG); Récepteur commun des chaînes gamma des cytokines ; P64	6,6	20,0	302
Filaggrine épidermale (FLG)	28,7	7,3	25
Loricrine (LOR; LRN)	31,9	11,7	37
Protéine liée à la différenciation des adipocytes	15,8	23,1	146
Intégrine bêta 4 (ITGB4); antigène CD104	24,7	40,1	162
Protéine liant le calcium S100 A7; Psoriasine	135,2	202,0	149
Protéine liant le calcium S100 A8 (S100A8); Calgranuline A (CALA); "migration inhibitory factor-related protein 8" (MRP8); "leukocyte L1 complex light chain; cystic fibrosis antigen" (CFAG)	311,1	485,4	156
S100 Protéine liant le calcium A9 (S100A9); Calgranuline B (CAGB); "migration inhibitory factor-related protein 14" (MRP14); "leukocyte L1 complex heavy chain";	210,2	323,8	154
Ornithine décarboxylase (ODC)	9,4	18,1	193
Spermidine acétyltransférase	13,9	26,3	189
elafin; Inhibiteur spécifique des élastases (ESI); « skin-derived antileukoproteinase » (SKALP)	22,6	34,3	152
« calmodulin-like skin protein » (CLSP)	31,8	16,0	50

Le schéma de la figure unique représente le profil obtenu par hybridation des sondes d'ADN complémentaires marquées avec les différents ARNm

obtenus avec un épiderme normal humain traité avec un extrait brut aqueux d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*.

- L'expression des gènes indiqués en gras dans le schéma de la figure unique
- 5 (calgranuline A, calgranuline B, loricrine, psoriasine, protéine du type calmoduline, MMP3 et TIMP1) a été également quantifiée par la technique de RT-PCR (« Polymerase Chain Reaction Reverse Transcriptase » ou Transcription inverse - Réaction en chaîne de la polymérase) afin de valider les résultats premièrement obtenus.
- 10 Dans cette expérience, l'actine a été utilisée comme marqueur de référence.

Les résultats présentés dans le tableau II ci-dessous ont été obtenus :

Gène	Expression du gène par rapport au témoin (base 100) – RT-PCR
Calgranuline A	153
Calgranuline B	166
Filaggrine	16
Loricrine	14
Psoriasine	137
"Calmodulin Like Skin Protein"	44
Matrice Métalloprotéase 3	230
Inhibiteur tissulaire de la Métalloprotéase 1	209

- Le traitement des explants de peau par un extrait d'*Aphanizomenon-flos-*
- 15 *aquae flos-aquae* induit des modifications significatives dans l'expression de la différenciation et prolifération des cellules de l'épiderme. Ces modifications sont identiques à celles obtenues avec un composé de type rétinol (ou rétinoïde : lipide diffusant directement dans la membrane plasmique) sans que l'extrait d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* n'en présente les
- 20 contraintes de formulation.

- L'expression de la CLSP (« Calmodulin Like Skin Protein » ou protéine de
- peau du type Calmoduline), un marqueur spécifique de la différenciation des
- kératinocytes, est considérablement réprimée par des rétinoïdes et leurs
- 25 analogues dans la stratum granulosum (la troisième couche la plus interne

de l'épiderme où la kératine apparaît sous forme de granules) et les couches inférieures du stratum corneum (couche la plus externe de l'épiderme) (Mehul B. et al., Calmodulin-like skin protein: a new marker of keratinocyte differentiation, J. Invest. Dermatol., 2001 Jun, 116(6), 905-9).

5

L'extrait brut d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* réduit par deux fois l'expression de la CLSP, ceci est un argument en faveur de son implication dans la modulation de ce marqueur.

10 Par ailleurs, les rétinoïdes inhibent l'expression de la loricrine (Brown L.J. et al., Retinoic acid suppression of loricrin expression in reconstituted human skin cultured at the liquid-air interface, J. Invest. Dermatol., 1994 Jun, 102(6), 886-90), tout comme l'extrait brut d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* qui en réduit de plus de 10 fois l'expression.

15

Quant aux filaggrines, qui résultent en outre de la digestion des protéines de profilaggrines contenues dans les granules dans la partie inférieure du stratum corneum, elles sont ensuite digérées par des peptidases en acides aminés. L'inhibition des messagers des filaggrines pourrait résulter d'une

20 inhibition globale de la différenciation des kératinocytes et ainsi contribuer à une meilleure cohésion des cornéocytes (dans la couche cornée, le kératinocyte prend le nom de cornéocyte) et donc à une amélioration de la fonction barrière cutanée.

25 La loricrine est le constituant majeur de la paroi des cornéocytes, et est contenue dans les granules jusqu'au stade terminal de la différenciation et contribue ensuite à la formation de l'enveloppe des cornéocytes afin de la renforcer. La diminution de son expression sous l'effet de l'extrait brut d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* est en cohérence avec l'évolution

30 des expressions des filaggrines et de la CLSP.

---

En revanche, l'expression des calgranulines A et B, qui sont synthétisées par les cellules épithéliales et les kératinocytes, est augmentée sous l'effet de l'extrait brut d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*. La psoriasine qui,

- comme la calgranuline A et la calgranuline B, appartient à la famille des protéines S100, et dont l'expression est inducible par les rétinoïdes (Tavakkov A. et al., A retinoic acid-inducible skin-specific gene (RIS-1/psoriasis): molecular cloning and analysis of gene expression in human skin in vivo and cultured skin cells in vitro, Mol. Biol. Rep., 1994, 20(2), 75-83) dans les kératinocytes primaires en différenciation a une expression qui augmente également sous l'effet du traitement. Il en est de même de l'augmentation de l'expression de la MMP3 qui est connue pour être significativement augmentée sous l'effet des rétinoïdes (Varani J. et al., Expression of serine proteases and metalloproteinases in organ-cultured human skin. Altered levels in the presence of retinoic acid and possible relationship to retinoid-induced loss of epidermal cohesion, Am. J. Pathol., 1994, 145, 561-573).
- Tous ces événements - activation de l'expression relative des messagers calgranuline A, calgranuline B, psoriasine, métalloprotéase 3 et inhibition de l'expression des messagers filaggrine, loricrine, "calmodulin like skin protein" - laissent entrevoir une action analogue à celle des rétinoïdes (« rétinoïd like ») de l'application topique de l'extrait brut d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*. De plus, l'augmentation de l'expression de l'Inhibiteur Tissulaire de la Métalloprotéase 1 (TIMP1) suppose un effet anti-âge lors de l'application topique d'une composition cosmétique à base d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*.
- Une composition pour le soin après soleil comprend :
- |     |   |            |
|-----|---|------------|
| A1* | Eau déminéralisée                                     | qsp** 100% |
| A2  | Sequestrene ® NA4/Celon ® E/Trilon ® B                | 0,01%      |
| B1  | Nipagin ® M/POB Méthyle                               | 0,05 %     |
| C1  | Carbopol ® 940  | 15,00%     |
| D1  | Triéthanolamine                                       | 0,5 à 1%   |
| E1  | Conservateur antimicrobien                            | 0,5 à 1%   |
| F1  | Silicone  | 1 à 2%     |
| F2  | Parfum  | 0,15%      |
| G1  | Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> | 0,5 à 5%   |

En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5%  
d'extrait sec d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*)

(\* : chacune des lettres placées devant un composant représente une phase)

5 (\*\* qsp : quantité suffisante pour)

Une composition pour les soins anti-âge comprend :

	A1	Emulium ® (Gattefossé)	4,0%
	A2	Amerchol ® (Amerchol)	6,0%
10	A3	Amerlate ® (Amerchol)	2,0%
	A4	Végétol ® huileux calendula (Gattefossé)	2,0%
	A5	LNST ® 98 (Lanatech)	1,0%
	B1	Eau déminéralisée	qsp100%
	B2	Carbopol ® (BF Goodrich)	10,0%
15	C	Abil ® (Goldschmidt)	6,0%
	D1	Eau déminéralisée	5,0%
	D2	Triéthanolamine (Prolabo)	0,2%
	E1	Conservateur antimicrobien	0,5%
	E2	Glycérine naturelle (Elf Atochem)	4,0%
20	F	Fluidamid ® DF 125 (Roquette)	4,0%
	G	Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	0,5 à 5%
	H	Parfum	0,3%

25

Une composition pour le lavage et le soin des cheveux comprend :

	A1	Texapon ® (Henkel)	10,00%
	B1	Eau déminéralisée	qsp100%
	B2	Sequestrene ® (Prolabo)	0,05%
30	C1	Tegobétaïn ® (Goldschmidt)	10,00%
	D1	Empilan ® (Albright & Wilson St Mihiel)	4,00%
	E1	Hydralpatine ® 3P (Lanatech)	3,00%
	E2	Conservateur antimicrobien	0,50%
	F1	Glutamate (Amerchol)	15,00%

	G1	Oramix ® (Seppic)	6,00%
	G2	Simulsol ® (Seppic)	1,00%
	H1	Eau déminéralisée	5,00%
	H2	Acrysol ® (Seppic)	6,00%
5	J1	Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	0,5 à 5%

Une composition soin anti-rides comprend :

10	A1	Eau déminéralisée	qsp100%
	A2	Sepigel ® (Seppic)	1,0%
	B1	Emulium ® (Gattefossé)	3,0%
	B2	Amerchol ® (Amerchol)	4,0%
	B3	Crodamol ® (Croda)	8,0%
15	B4	Abil ® (Goldschmidt)	5,0%
	C	Conservateur antimicrobien	0,3%
	D	Fluidamid ® DF15 (Gattefossé)	3,0%
	E	Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	0,5 à 5%
20			

Une composition masque traitant pour cheveux desséchés comprend :

	A1	Cetaryl glucoside (Montanov ® 68 - SEPPIC)	7 %
	A2	Coco betaïne (AMONYL ® 265 BA - SEPPIC)	0,5 %
25	A3	Beurre de karité	4 %
	A4	Cire d'abeille	2 %
	A5	Dimethicone (DOW CORNING)	5 %
	B1	Eau déminéralisée	qsp 100%
	B2	Decyl glucoside (ORAMIX ® NS 10 - SEPPIC)	1 %
30	C1	Parfum	0,5%
	C2	Conservateur antimicrobien	0,5%
	C3	Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> En Solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	0,5 à 5%



Une crème de nuit comprend :

	A1	Cetearyl glucoside (Montanov ® 68 - SEPPIC)	6 %
	A2	Huiles végétales	20 %
5	A3	DL-alpha-tocopherol (BASF)	0,05%
	B1	Eau déminéralisée	qsp 100%
	C1	Conservateur antibactérien	0,5%
	C2	Parfum	0,3 %
	C4	Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i>	0,5 à 5%
10		En Solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	

---



## Revendications

1. Composition applicable par voie topique,  
caractérisée en ce qu'elle comporte au moins un extrait d'*Aphanizomenon-*  
5 *flos-aquae flos-aquae* à une concentration comprise entre 0,01 et 10% en  
matière sèche du poids total de la composition.
2. Composition selon la revendication 1,  
caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'émulsions simples ou  
10 multiples telles qu'une émulsion eau/huile ou huile/eau ou encore une  
émulsion triphasique et/ou un gel ou une solution aqueuse ou  
hydroalcoolique.
3. Composition selon la revendication 1,  
15 caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'un système vectorisé  
à libération contrôlée ou à libération modulée.
4. Utilisation d'une composition selon la revendication 1 pour la  
fabrication de produits pour le traitement des couches supérieures de  
20 l'épiderme et/ou du cheveu.
5. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 4 pour  
la fabrication d'un cosmétique.
- 25 6. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 4 pour  
la fabrication d'une composition dermatologique.
7. Composition pour le soin après soleil,  
caractérisée en ce qu'elle comprend :  
30
  - Eau déminéralisée qsp\* 100%
  - Sequestrene ® NA4/Celon ® E/Trilon ® B 0,01%
  - Nipagin ® M/POB Méthyle 0,05 %
  - Carbopol ® 940 15,00%
  - Triéthanolamine 0,5 à 1%

	▪ Conservateur antimicrobien	0,5 à 1%
	▪ Silicone	1 à 2%
	▪ Parfum	0,15%
	▪ Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i>	0,5 à 5%
5	En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	

8. Composition pour les soins anti-âge,  
caractérisée en ce qu'elle comprend :

10	▪ Emulium ®	4,0%
	▪ Amerchol ®	6,0%
	▪ Amerlate ®	2,0%
	▪ Végétol ® huileux calendula	2,0%
	▪ LNST ® 98	1,0%
15	▪ Eau déminéralisée	qsp100%
	▪ Carbopol ®	10,0%
	▪ Abil ®	6,0%
	▪ Eau déminéralisée	5,0%
	▪ Triéthanolamine	0,2%
20	▪ Conservateur antimicrobien	0,5%
	▪ Glycérine naturelle	4,0%
	▪ Fluidamid ® DF 125	4,0%
	▪ Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i>	0,5 à 5%
	En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	
25	▪ Parfum	0,3%

9. Composition pour le lavage et le soin des cheveux,  
caractérisée en ce qu'elle comprend :

30	▪ Texapon ®	10,00%
	▪ Eau déminéralisée	qsp100%
	▪ Sequestrene ®	0,05%
	▪ Tegobétaïn ®	10,00%
	▪ Empilan ®	4,00%



5	▪ Hydralphatine 3P	3,00%
	▪ Conservateur antimicrobien	0,50%
	▪ Glutamate	15,00%
	▪ Oramix ®	6,00%
	▪ Simulsol ®	1,00%
	▪ Eau déminéralisée	5,00%
	▪ Acrysol ®	6,00%
	▪ Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i>	0,5 à 5%
10	En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	

10. Composition soin anti-rides,  
caractérisée en ce qu'elle comprend :

15	▪ Eau déminéralisée	qsp 100%
	▪ Sepigel ®	1,0%
	▪ Emulium ®	3,0%
	▪ Amerchol ®	4,0%
	▪ Crodamol ®	8,0%
20	▪ Abil ®	5,0%
	▪ Conservateur antimicrobien	0,3%
	▪ Fluidamid ® DF15	3,0%
	▪ Extrait d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i>	0,5 à 5%
	En solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5% d'extrait sec d' <i>Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae</i> )	

25

11. Composition masque traitant pour cheveux desséchés,  
caractérisée en ce qu'elle comprend :

30	▪ Cetaryl glucoside	7 %
	▪ Coco betaïne	0,5 %
	▪ Beurre de karité	4 %
	▪ Cire d'abeille	2 %
	▪ Diméthicone	5 %
	▪ Eau déminéralisée	qsp 100%
	▪ Decyl glucoside	1 %

- Parfum 0,5%
  - Conservateur antimicrobien 0,5%
  - Extrait d'*Aphanizomenon-flos-aquae. flos-aquae* 0,5 à 5%
- En Solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5%  
d'extrait sec d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*)

5

## 12. Crème de nuit,

caractérisée en ce qu'elle comprend :

- Cetearyl glucoside 6 %
  - Huiles végétales 20 %
  - DL-alpha-tocopherol 0,05%
  - Eau déminéralisée qsp 100%
  - Conservateur antibactérien 0,5%
  - Parfum 0,3 %
  - Extrait d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* 0,5 à 5%
- En Solution dans du sorbitol et de l'eau (soit de 1 à 5%  
d'extrait sec d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae*)

10

15

## 13. Procédé pour la préparation d'une composition selon la revendication

20 1,

caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- au moins une macération à une température de 25 à 50°C et, de préférence, 35°C d'algues bleues séchées d'*Aphanizomenon-flos-aquae flos-aquae* en présence d'enzymes telles que des cellulases, des pectinases et des glucanases pendant un temps de dix minutes à dix heures et de préférence quatre heures sous agitation,
- une séparation liquide/solide par centrifugation,
- une séparation liquide/liquide par un procédé de filtration membranaire,
- un séchage et/ou une dilution dans une solution contenant des adjuvants spécifiques, par exemple du sorbitol,
- une éventuelle séparation spécifique des divers constituants ainsi extraits, par exemple par chromatographie, les différentes substances obtenues pouvant être utilisées seules ou en mélange.

25

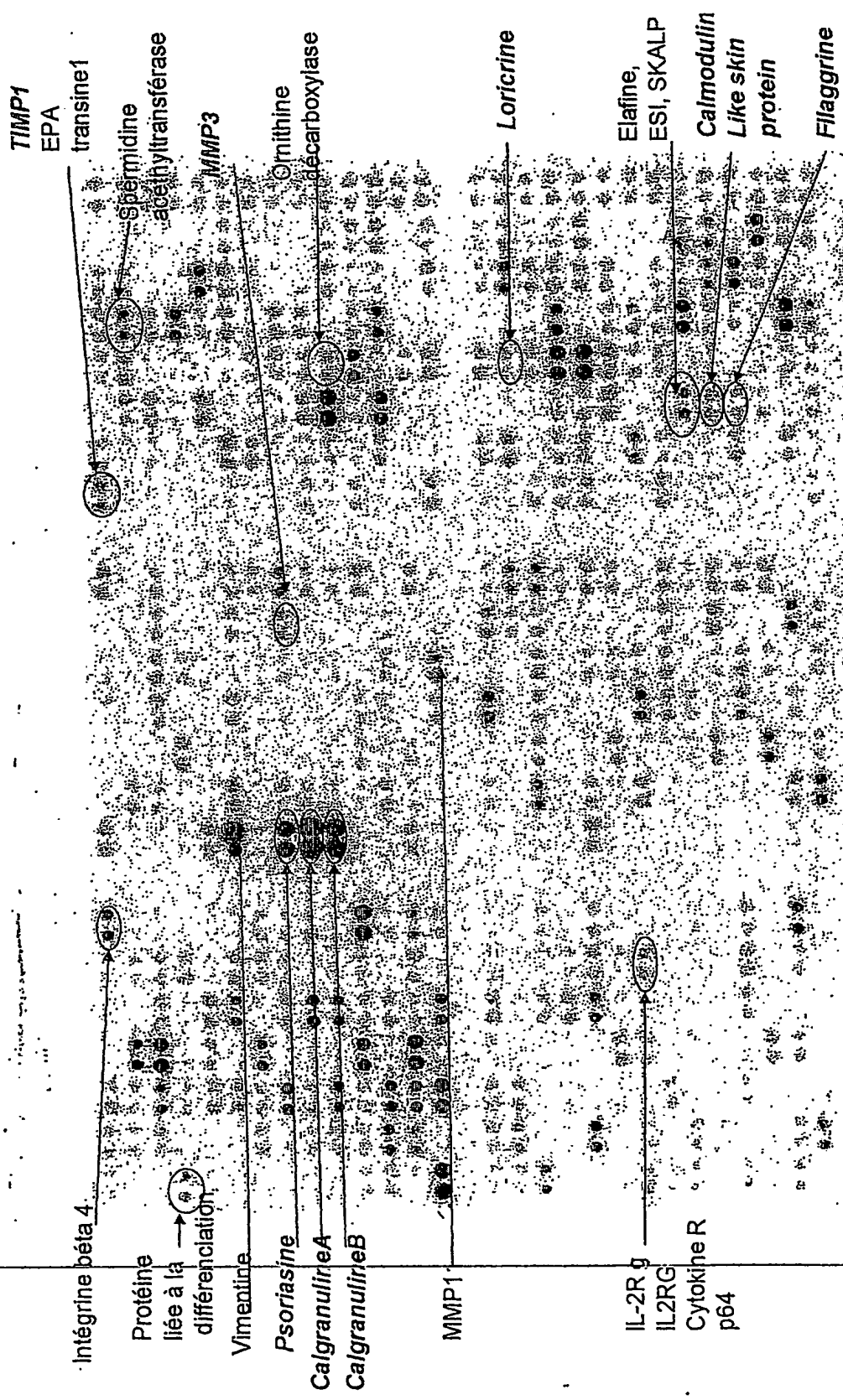
30

14. Procédé selon la revendication 13,  
caractérisé en ce que l'étape de séchage est un séchage classique (chaleur)  
ou un séchage par nébulisation ou lyophilisation.

5

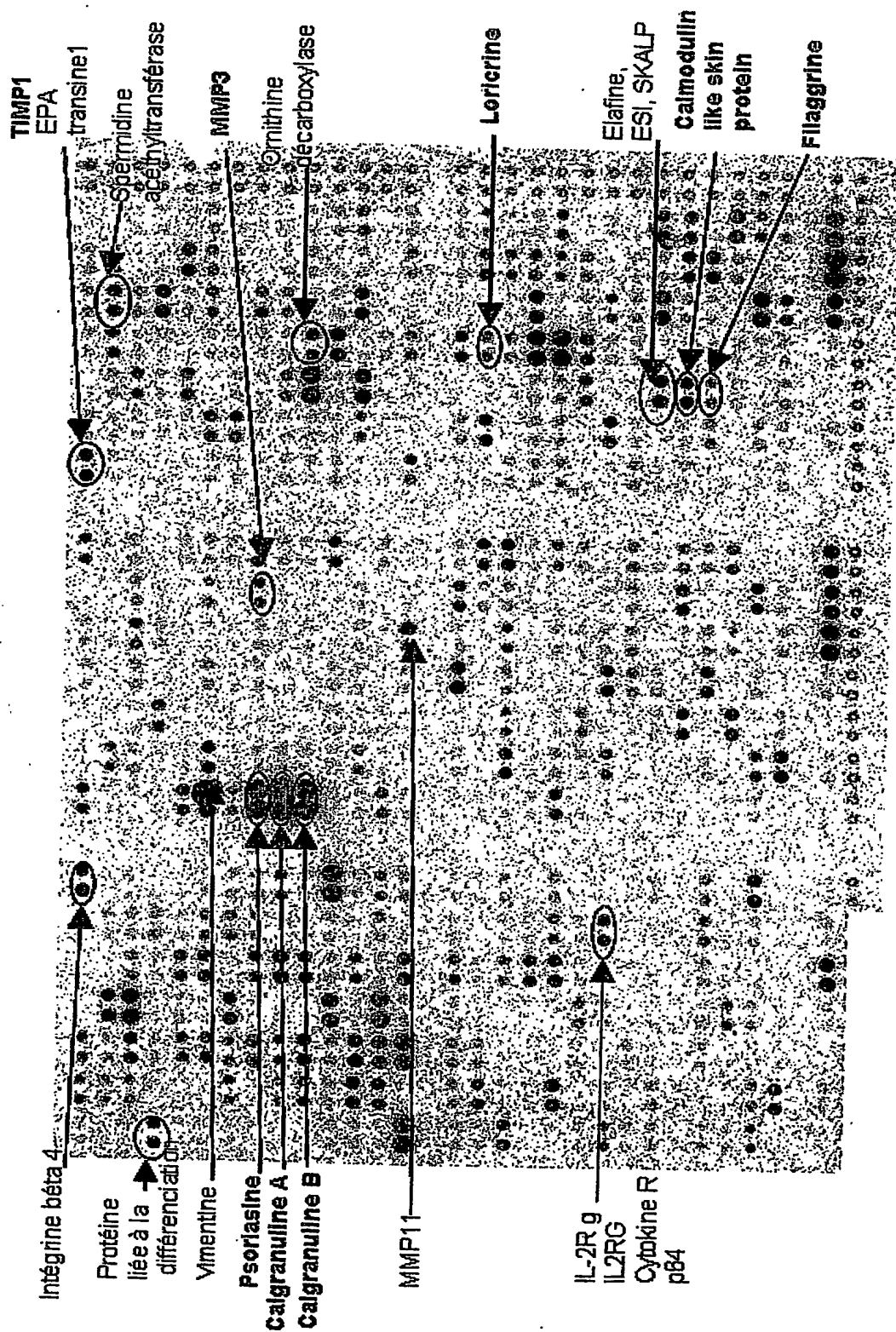
15. Procédé selon la revendication 13,  
caractérisé en ce que le susdit extrait est dissous dans une solution aqueuse  
telle qu'un mélange eau/sorbitol.

111





1/1





DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.. / 1..  
(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

08 113 W / 260899

Vos références pour ce dossier (facultatif)		IRISB0018	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0300818	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) COMPOSITION COMPRENANT UN EXTRAIT D'APHANIZOMENON FLOS-AQUAE, SON UTILISATION ET SA PREPARATION.			
LE(S) DEMANDEUR(S) : CABINET MOUTARD - 35, rue de la Paroisse - 78000 VERSAILLES - agissant en qualité de mandataire auprès de : LANATECH Laboratoire Nature et Technique (S.A.R.L.) 19, rue Auber 75009 PARIS			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		JANAILHAC	
Prénoms		Marie-Claire	
Adresse	Rue	19, rue Auber	
	Code postal et ville	75009	PARIS
Société d'appartenance (facultatif)		LANATECH	
Nom		RENARD	
Prénoms		Catherine	
Adresse	Rue	19, rue Auber	
	Code postal et ville	75009	PARIS
Société d'appartenance (facultatif)		LANATECH	
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)			
23 janvier 2003 A. de Saint Palais - No 94-0306			

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☐ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**